

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ЮЖНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ДОНСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**



АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И АКВАКУЛЬТУРЫ БАССЕЙНОВ ЮЖНЫХ МОРЕЙ РОССИИ

**Материалы Международной научной конференции
г. Ростов-на-Дону
1–3 октября 2014 г.**

**Ростов-на-Дону
Издательство ЮНЦ РАН
2014**

КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУНОКОМПЛЕКСОВ В КРОВИ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ В СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД

Н.С. Кузьминова¹, Е.В. Кулаковская², К.В. Якимова²

THE CONCENTRATION OF IMMUNE COMPLEXES IN BLOOD OF BLACK SEA FISH IN MODERN PERIOD

N.S. Kuzminova, E.V. Kulakovskaya, K.V. Yakimova

¹Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского, Севастополь, Россия

²Малая академия наук учащейся молодежи, Севастополь, Россия

kunast@rambler.ru

Образование комплексов антиген-антитело (иммунных комплексов) – естественная иммунологическая реакция здорового организма, направленная на выведение чужеродного антигена (экзогенного или эндогенного) и сохранение гомеостаза. При ревматологических, аутоиммунных, аллергических заболеваниях, а также инфекциях различной этиологии и новообразованиях у человека и животных отмечается повышение содержания циркулирующих иммунокомплексов (ЦИК) (Немов, Попкова, 2011; Старкова и др., 2007; Fratry 's et al., 2012).

Сведения об использовании данного параметра в ихтиологии малочисленны, хотя факт того, что это весьма чувствительный иммуноиндикатор при оценке здоровья рыб уже установлен (Кузьминова, Дорохова, 2012; Patriche, 2008). В связи с этим, целью работы стал анализ концентрации ЦИК в сыворотке крови черноморских рыб с учетом их экологических особенностей и района обитания.

Материалы и методы. Концентрацию ЦИК изучали в сыворотке крови некоторых видов черноморских рыб (табл.), отловленных с помощью донных ловушек, установленных в прибрежной зоне г. Севастополя (рис. 1) в 2007–2013 гг. Для этого кровь отбирали из хвостовой артерии, сыворотку получали путем отстаивания на холоду. Биохимические исследования проводили на индивидуальных и суммарных образцах.

Известно, что увеличение содержания ЦИК в полиэтиленгликоль-(ПЭГ)-преципитате коррелирует с некоторыми клиническими состояниями. Примененный нами метод основан на физико-химических свойствах ЦИК: метод преципитации из сыворотки крови комплексов антиген-антитело в 7 % растворе ПЭГ-6000, приготовленном с использованием 0,1 М боратного буфера (рН 8,4), при комнатной температуре с последующим (через 60 мин) фотометрическим определением плотности преципитата при длине волны 450 нм (Чиркин, 2002). При использовании 7 % ПЭГ определяют мелкие ЦИК, что является диагностически значимым показателем иммунологической реактивности организма при многих видах патологии (Немов, Попкова, 2011; Чиркин, 2002).



Рис. 1. Районы отлова рыб в прибрежной акватории города Севастополя

Результаты и обсуждение. У массовых пелагических видов количество позитивных образцов было наибольшим у темного горбыля и ставриды (табл.). У всех исследованных придонно-пелагических и придонных видов малые ЦИК выявлялись также часто, причем количество сывороточных образцов было достаточным, за исключением ошибня. Среди донной ихтиофауны наибольшее количество проанализированных образцов приходилось на морского ерша и только 10 % из них были рефрактерными. Ранее нами было показано, что частота выявления лизоцима в сыворотке крови черноморских рыб была также высокой (более 50 %) (Кузьминова, 2010). Большое количество позитивных сывороток в данной работе, безусловно, свидетельствует о продолжающемся воздействии биологического загрязнения на черноморскую ихтиофауну и о протекающих в организме рыб защитных реакциях.

Наиболее массовыми в нашем анализе были ставрида, кефаль-сингиль, мерланг, спикара и морской ерш. Частота выявления малых ЦИК для этих видов составляла более 70 % (табл.). Анализ зависимости уровня малых ЦИК в крови мерланга из разных акваторий был проведен нами ранее: у особей, обитающих в заповедной зоне (Карадаг) количество позитивных по ЦИК образцов было мало и в целом их концентрация минимальна по сравнению с таковым показателем пикши из прибрежной зоны города Севастополя (Кузьминова, Дорохова, 2012). Сопоставимое количество образцов крови ставриды из разных бухт было недостаточным для изучения влияния комплексного загрязнения акваторий. В связи с этим, был проведен анализ концентрации ЦИК в крови спикары, кефали-сингиля и морского ерша.

Таблица

Объекты исследований. Процент позитивных проб

№	Вид	Общее количество анализирован- ных образцов	Количество позитивных образцов, %
1 П	ставрида <i>Trachurus mediterraneus</i> (Staindachner, 1956)	88	78,41
2 П	сельдь черноморская <i>Alosa kessleri pontica</i> (Eichwald, 1838)	2	100
3 П	темный горбыль <i>Sciaena umbra</i> L., 1758	32	90,62
4 П	луфарь <i>Pomatomus saltatrix</i> (Linnaeus, 1766)	6	50
5 П	сарган <i>Belone belone euxini</i> Gunther, 1866	2	100
6 П	ласкирь <i>Diplodus annularis</i> (L., 1758)	19	52,63
7 ПП	кефаль-сингиль <i>Lisa aurata</i> (Risso, 1810)	86	75,58
8 ПП	мерланг <i>Merlangus merlangus euxinus</i> (Nordmann, 1758)	99	85,85
9 ПП	спикара <i>Spicara flexuosa</i> Rafinesque, 1758	112	82,14
10 Прд	зеленушка <i>Symphodus tinca</i> (L., 1758)	19	52,63
11 Прд	султанка <i>Mullus barbatus ponticus</i> Essipov, 1927	34	82,35
12 Прд	морской налим <i>Gaidropsarus mediterraneus</i> (L., 1758)	46	76,09
13 Прд	ошибень <i>Ophidion rochei</i> Muller, 1845	2	100
14 Д	звездочет <i>Uranoscopus scaber</i> L., 1758	40	77,5
15 Д	бычок-кругляк <i>Neogobius melanostomus</i> (Pallas, 1811)	36	75
16 Д	бычок-мартовик <i>Mesogobius batrachocephalus</i> (Pallas, 1811)	44	77,27
17 Д	морской ерш <i>Scorpaena porcus</i> (L., 1758)	382	90,05
18 Д	камбала-глосса <i>Platichthys luskus</i> (Pallas, 1811)	9	77,78
19 Д	морской язык <i>Solea nasuta</i> (Pallas)	5	100
20 Д	морской кот <i>Dasyatis pastinaca</i> (L., 1758)	9	100
21 Д	морская лисица <i>Raja clavata</i> L., 1758	4	75

Примечание: П – пелагические виды, ПП – придонно-пелагические, Прд – придонные, Д – донные виды.

Концентрация малых иммунокомплексов в сыворотке крови спикары из б. Балаклавская была минимальной (рис). Количество самок и самцов, у которых была отобрана сыворотка крови, было близким в трех акваториях. Однако, в то время как в бухтах Карантинная и Александровская, доминировали рыбы младших возрастных групп, в б. Балаклавская, – рыбы среднего возрастного класса и старые особи. Это, возможно, и объясняет тот факт, что в крови рыб ЦИК не накапливаются за счет высокой адаптивной способности рыб (увеличивающейся с возрастом),

а именно устранения как эндогенных, так и экзогенных антигенов (вирусы, микроорганизмы, паразиты). В б. Александровская, напротив, ЦИК в кровеносном русле, аккумулируются в большей степени, что свидетельствует, вероятно, о большем биологическом загрязнении как самой акватории и/или рыб, заходящих в эту бухту. При исследовании влияния антропогенного фактора на скорпену отличий в концентрации ЦИК не обнаружено у особей из бухт Карантинной и Александровской, в то время как в чистых акваториях величина исследованного параметра минимальна (рис). При сравнении концентрации ЦИК у одновозрастных особей кефали-сингиля (все рыбы были ювенильными) было показано, в б. Карантинная было зафиксировано максимальное повышение уровня ЦИК в крови кефали, а в Балаклавской – минимальное. Следует при этом отметить, что диапазоны изменения ЦИК в изученных акваториях составляли: в б. Александровская от 6 до 141, в б. Карантинная от 5 до 1666, а в б. Балаклавская от 9 до 88 усл.ед. (рис.).

На основании проведенных исследований можно заключить, что согласно величинам концентрации малых ЦИК в крови кефали-сингиля, спикары и скорпены, уровень антропогенного загрязнения в бухтах находится в следующем ряду (возрастает): б. Балаклавская (\approx м. Толстый) < б. Карантинная < б. Александровская.

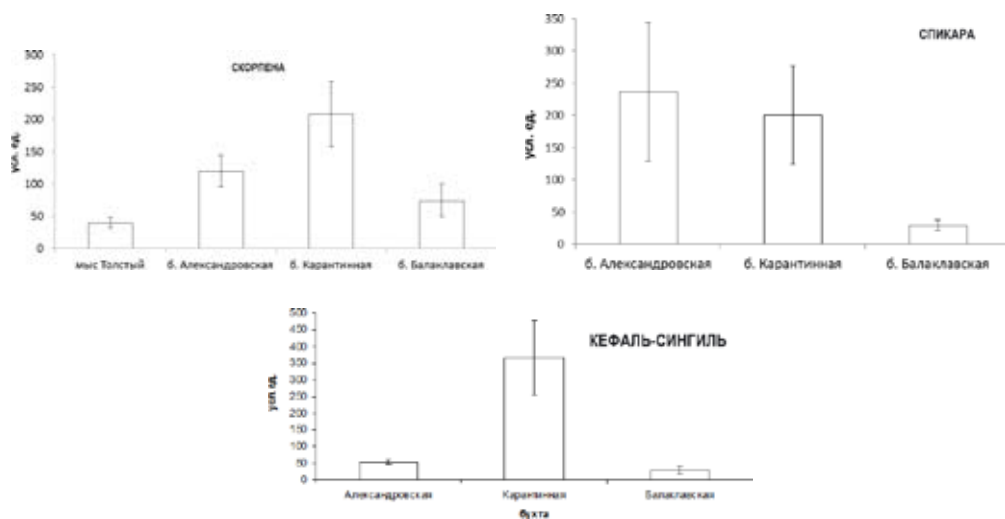


Рис. 2. Концентрация малых циркулирующих иммунокомплексов в крови некоторых видов черноморских рыб

Список использованной литературы

1. Абонеева Е.Е. Формирование иммунного статуса телят в связи с генотипом их матерей в локусе каппа – казеина: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук: спец. 06.02.07 «Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных». Ставрополь, 2010. 24 [1] с.

2. Кузьминова Н.С. Концентрация малых циркулирующих иммунокомплексов в сыворотке крови некоторых видов черноморских рыб // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: материалы III Междунар. конф. с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов (22–26 июня 2010 г.). – Петрозаводск, 2010. С. 96–97.
3. Кузьминова Н.С., Дорохова И.И. Биохимические показатели черноморского мерланга в разных районах Черного моря // Сучасні проблеми біології, екології та хімії: зб. матер. III Міжнар.наук.-практ. конф., присвяченної 25-річчю біологічного факультету (11–13 травня 2012 року, м. Запоріжжя). Запоріжжя, 2012. С. 135–137.
4. Гриневиц Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лабораторное дело. 1981. № 8. С. 493–496.
5. Пат. 2415430 Российская Федерация, МПК G01N 33/52 (2006.01) Способ определения циркулирующих иммунокомплексов / Немов В.В., Попкова М. И.; заявитель и патентообладатель ФГУН Нижегородский научн.-исслед. ин-т эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной” Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. № 2009137445/15; заявл. 09.10.2009; опубл. 27.03.2011, Бюл. № 9.
6. Старкова Т.В., Полетаева О.Г., Коврова Е.А., Красовская Н.Н. Оценка специфической активности диагностического набора реагентов для выявления циркулирующих иммунных комплексов, содержащих антигены описторхисов // “Новости “Вектор-Бест” N3(45) 2007. С. 7–9.
7. Khokhlova I. S., Spinu M., Krasnov B. R., Degen A. A. Immune response to fleas in a wild desert rodent: effect of parasite species, parasite burden, sex of host and host parasitological experience // The Journal of Experimental Biology. 2004. 207. P. 2725–2733.
8. Patriche T. Research on determination of circulating immune complexes in the blood of the high economic value fish farmed species in Romania // Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii. 2008. Vol. 41 (2), Timișoara. P. 124–128.
9. Fratri 'c N., Gvozdi'c D., Vukovi'c D., Savi'c O., Bua'c M., Ili 'c V. Evidence that calf bronchopneumonia may be accompanied by increased sialylation of circulating immune complexes' IgG // Veterinary Immunology and Immunopathology. 2012. 150. P. 161–168.